Aus der bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt
in Oberschleißheim
Vorstand: Direktor Dr. Drescher.

Das Verhalten des Bacterium abortus Bang im Rinderblut und Rinderserum gegenüber Konservierungsmitteln.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines
doctor medicinae veterinariae
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

vorgelegt von

Walter Roch
appr. Tierarzt aus München.

München
Buchdruckerei von Eug. Hohenhaus.
1930

Aus der bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt
in Oberschleißheim
Vorstand: Direktor Dr. Drescher.

Das Verhalten des
Bacterium abortus Bang
im Rinderblut und Rinderserum gegenüber Konservierungsmitteln.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines
doctor medicinae veterinariae
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

vorgelegt von

Walter Koch
appr. Tierarzt aus München.

München
Buchdruckerei von Eug. Hohenhaus.
1930

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Referent: Professor Dr. Ernst.

A. Einleitung.

Rinderblut und Rinderserum findet als Impfstoff in Form des Rekonvaleszentenblutes bezw. -Serums und des Riemser Serums Verwendung zur Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche, Rinderserum außerdem noch zur Bekämpfung des Milzbrands, des Rinderabortus und des Rotlaufs.

Soferne Abortusbakterien im Blut infizierter Rinder kreisen, besteht die Möglichkeit einer Weiterverschleppung der Seuche durch Impfung mit Rinderblut und Rinderserum, das von infizierten Tieren stammt.

Bei der weiten Verbreitung des seuchenhaften Verwerfens erscheint die Gefahr einer Ansteckung durch Abortusbakterien enthaltende Impfstoffe besonders groß, falls Rekonvaleszentenblut bezw. -Serum verwendet wird, insonderheit dann, wenn diese ohne Zusatz von Konservierungsmitteln verimpft werden, wie dies zum Beispiel vielfach in Bayern bei Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche durch Rekonvaleszentenblut geschah.

Eine künstliche Übertragung ist auch denkbar bei Verwendung der von Rindern gewonnenen Heilseren, da die allgemein gebräuchlichen Methoden einer Prüfung von Impfstoffen auf Keimfreiheit eine spezielle Untersuchung auf Abortusbakterien vermissen lassen.

Die Frage des Vorkommens von Abortusbakterien im Blut des Rindes verdient unter diesem Gesichtspunkt eingehende Würdigung.

Daß man der Klärung dieser Frage bisher sehr wenig Augenmerk zugewandt hat, kommt wohl daher, daß der Nach-

weis der Bangbakterien im Blute mit Schwierigkeiten verbunden ist; nach den Ergebnissen von Laboratoriumsversuchen finden sich die Abortusbakterien im Blut — im Gegensatz zu anderen Organen — nur selten, bezw. gehen sie dort bald zu Grunde.

Daß die Abortusbakterien auf dem Wege der Blutbahn weiterverbreitet werden, erscheint im Hinblick auf deren Fundstellen im Körper natürlich infizierter Tiere von vorneherein wahrscheinlich.

Seit den Versuchen von B. Bang (1), dem es des öfteren gelang auf dem Fütterungswege trächtige Tiere mit Abortusbakterien zu infizieren, ist die herrschende wissenschaftliche Anschauung die, daß die Abortusbakterien fast ausnahmslos auf peroralem Wege in den Tierkörper gelangen.

Andererseits ist das Vorkommen der Abortusbakterien im Körper infizierter Rinder auf wenige Organe beschränkt.

Der Sitz der Infektion ist in erster Linie der trächtige oder kurz vorher trächtig gewesene Uterus, ferner das Euter und die Euterlymphknoten, beim männlichen Tiere die Geschlechtsorgane. In diese Organe, die mit dem Magen-Darmkanal in keiner unmittelbaren Verbindung stehen, können sie nur auf dem Wege der Blutbahn gelangen.

Den Beweis, daß Abortusbakterien auf diesem Wege zum Beispiel in den Uterus gelangen können, führte B. Bang (1) dadurch, daß er trächtigen Rindern Reinkulturen per os verabreichte und nach eingetretenem Abortus die Bakterien in den Eihäuten feststellen konnte.

Die Infektion der männlichen Geschlechtsorgane muß nicht ausschließlich durch die Begattung erfolgen, sondern auch sie ist auf dem Fütterungswege möglich. Auch hier müßten die genannten Organe auf dem Blutwege infiziert werden (Hodosy (2) und Marcis (3).

Im Blute verseuchter Rinder konnten Abortusbakterien bisher noch nicht nachgewiesen werden.

Frieß (4) untersuchte 131 Blutproben von Rindern, die im

Komplementbindungs- und Agglutinationsversuch positiv reagiert hatten, ferner 9 Proben, die bei der serologischen Untersuchung negativ waren, jedoch von Kühen stammten, die verkalbt hatten, mikroskopisch, kulturell und durch den Impfversuch auf das Vorhandensein von Abortusbakterien mit negativem Ergebnis. Er konnte dagegen das Auftreten der Abortusbakterien im Blut von Meerschweinchen nach intravenöser Infektion bis zu 24 Stunden, nach intramuskulärer bis zu 32 Stunden, nach intraperitonealer bis zu 48 und nach subkutaner Infektion bis zu 72 Stunden mikroskopisch, kulturell oder durch den Impfversuch nachweisen. Das erste Auftreten der Bakterien im Blut wurde jeweils nach vier Stunden beobachtet.

Ascoli (5) gelang es als erstem Abortusbakterien aus dem Blut von Meerschweinchen, die intraperitoneal, intravenös und subkutan mit abortusverdächtigem Untersuchungsmaterial infiziert worden waren, kulturell nachzuweisen.

Zwick und Zeller (6) konnten nach intravenöser, bezw. intrakardialer Applikation von Abortusbakterien, aus dem Blut von Kaninchen und Meerschweinchen die Erreger züchten. Holth (7) gelang dies aus dem Blut von Ratten und Mäusen, die intraperitoneal mit Abortuskulturen geimpft waren.

Fleischner, Becki, Shaw und Meyer (zit. n. 8) züchteten Abortusbakterien aus dem Herzblut eines Affen, der mit bangbakterienhaltiger Ziegenmilch gefüttert worden war.

Brumpt (9) wies bei zwei Affen 16 Tage nach subkutaner Infektion mit einem Rinderabortusstamm im Blut kulturell die Bakterien nach.

Unter den Bedingungen der natürlichen Infektion sind vom Rinde stammende Abortusbakterien aber bisher nur im Blut des Menschen nachgewiesen worden; insbesondere waren es die unter dem Bilde der Septikämie verlaufenden Fälle, in denen dies unschwer gelang.

Keefer und Dunkan (zit. n. 10) sowie Habs (11) konnten aus dem Blute von an Bang-Infektion erkrankten Menschen, die sich entweder per os (Genuß roher Kuhmilch)

oder von Verletzungen der Haut aus infiziert hatten, Abortusbakterien züchten.

Ebenso gelang es Orr und Hubbleson (12) bei sechs Personen, die nach Genuß ungekochter Kuhmilch unter den Erscheinungen des Mittelmeerfiebers erkrankten, Bacterium abortus Bang im Blute nachzuweisen; die gleiche Feststellung machte auch Hardy (13).

In den als Septikämie verlaufenden Fällen glückte es Carpenter, A. C. Evans sowie Poppe (13) und Zeller (8) mehrmals die Bangbakterien aus dem Blute mittels geeigneter Kulturverfahren, wie Anreicherung in Leberbouillon, bei verminderter Sauerstoffspannung oder in Kohlensäureatmosphäre zu isolieren. Unterschiede in den Kultureigenschaften der Bangbakterien, die vom Menschen oder vom Rinde stammten, wurden hiebei nicht gefunden. Poppe (14) konnte auch nach dem Impfversuch am Meerschweinchen Bangbakterien aus deren Milz züchten.

Bemerkt sei noch, daß in Vorstehendem nur die Fälle aufgezählt worden sind, in denen die Diagnose in Übereinstimmung des Krankheitsbildes mit dem serologischen und bakteriologischen Blutbefund gesichert war.

Das umfangreichste Material über die Banginfektion beim Menschen hat Kristensen (15) bearbeitet, der alle auf Typhus oder Paratyphus zu prüfenden Blutproben des Seruminstituts gleichzeitig auf Banginfektion untersucht hat. Von 2150 Kranken lieferten 222 eine positive Agglutination, von 3175 Blutproben, die zur Wassermannreaktion eingesandt waren, gaben 13 mit Bangbakterien Komplementbindung. Bei 13 Patienten gelang es ihm nun, das Bacterium abortus Bang im Blut mikroskopisch, kulturell und durch den Impfversuch an Meerschweinchen mit nachfolgender serologischer Prüfung festzustellen. Außerdem infizierte O. Bang mit zwei aus dem Patientenblut gezüchteten Stämmen zwei ca. 6 Monate tragende Kalbinnen, deren Serum mit Bacterium abortus Bang keine Reaktion gezeigt hatte und die einem Bestande entstammten,

in dem überhaupt noch kein Verkalben vorgekommen war. Die Infektion erfolgte intravenös und zwar erhielt die eine Kalbin eine ganze Schrägagarkultur, die andere ein Zehntel Kultur. Im ersteren Falle trat nach 8 Tagen, im zweiten Falle nach 28 Tagen Verwerfen ein, die Erreger fanden sich im Fötus, in der Plazenta und in der Milch.

Die Pathogenität der aus dem Blut von Menschen isolierten Bangbakterien für das Rind und die Übereinstimmung dieser Stämme in ihren pathogenen Eigenschaften mit Rinderstämmen ist weiterhin durch Infektionsversuche von Carpenter und Merriam (13), sowie von van der Hoeden (16) bestätigt worden. Auch Bang und Bendixen (17) konnten durch Verimpfung von zwei aus dem Blut menschlicher Patienten gezüchteten Abortusstämmen an tragende Kühe nach 8 bezw. 30 Tagen Verwerfen hervorrufen.

Obwohl aus den Literaturangaben ersichtlich ist, daß der Nachweis des Bacterium abortus Bang nach natürlicher Ansteckung bisher nur im Blut des Menschen gelungen ist, kann angenommen werden, daß es auch im Blut des Rindes kreist. Sein Nachweis scheint aber hier, wo es nur in den seltensten Fällen als Septikämie-Erreger auftritt, besonders schwierig zu sein.

Nachdem aber mit dem Vorkommen von Abortusbakterien im Rinderblut und dem daraus gewonnenen Serum gerechnet werden kann, verdient die Frage besondere Beachtung, ob mit den zur Konservierung von Seren gebräuchlichen Desinfektionsmitteln die Erreger in den genannten Medien (Blut und Serum) abgetötet werden.

Aus der Literatur ist über Konservierungs- bezw. Desinfektionsmittel, die Bangbakterien in ihrer Entwicklung beeinflussen, wenig bekannt.

Zwick und Wedemann (18) haben bezüglich der Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel gegenüber Abortus-Bangbakterien folgende Ergebnisse erhalten:

Bei Zusatz von	2,5 %	Kresolseifenlösung	Abtötung	nach	50	Min.
„	5 %	„	„	„	30	„
„	1 %	Kresolschwefelsäure	„	„	20	„
„	2 %	„	„	„	10	„
„	3 %	„	„	„	10	„
„	1 %	Carbolsäure	„	noch nicht nach 3 Stunden		
„	3 %	„	„	„	100	„
„	2,5 %	„	„	„	50	„
„	Kalkmilch 1 : 20		„	„	$3^1/_2$	Std.
„	Chlorkalkmilch 1 : 20		scheinbar	nach	80	Min.

Der Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß Agar-Kulturen (in Kolleschalen) mit dem jeweils zu prüfenden Desinfektionsmittel übergossen wurden und nach verschieden langer Zeit aus dem mit der Desinfektionsflüssigkeit bedeckten, bei Zimmertemperatur aufgestellten Nährboden eine Öse Kulturmaterial auf ein Schrägagarröhrchen gebracht wurde; die Beobachtung des Wachstums erfolgte 7 Tage lang bei Aufbewahrung im Brutschrank von 37 Grad Celsius.

Der Versuch gibt jedoch keinerlei Anhaltspunkte über die Wirksamkeit genannter Desinfektions- und Konservierungsmittel auf Abortusbakterien, die mit eiweißhaltigen Flüssigkeiten wie Blut und Serum vermengt sind.

Zur Konservierung von Heilseren finden schon jeher Phenol- und Kresolpräparate Verwendung; die Anwendung von Formalin, Diaphtherin, Yatren und Chinosol ist jüngeren Datums.

Prettner (19) empfiehlt Diaphtherin, weil es wenig Fällungen verursacht, in gleichen Teilen wasserlöslich ist und gute baktericide Eigenschaften besitzt. Seine Giftigkeit sei gleich der des Phenols. Es wurde nach Enzenbach (20) bis zu den Jahren 1920/21 zu Konservierungszwecken verwendet, verschwand später jedoch aus dem Handel.

Yatren, von Hinz (21) als Konservierungsmittel für Seren eingeführt, wird nach Herzberg (22) den in der Praxis zu stellenden Forderungen, nämlich Erhaltung des Titers, Unterdrückung des Bakterien- und Schimmelwachstums, sowie Erhaltung von Farbe und Klarheit des Serums gerecht.

In den Jahren 1919/20, in denen in Bayern die Maul- und Klauenseuche in bösartiger Form herrschte, wurde nach Ernst (23) zur Konservierung des Rekonvaleszentenblutes vor allem Phenol verwendet.

Chloroform eignet sich nach Kirchner (24) trefflich zur Sterilisierung eiweißhaltiger Flüssigkeiten zum Beispiel Blutserum insbesondere deshalb, weil es sich durch Erwärmen wieder verflüchtigt.

Eine größere Bedeutung in der Serumkonservierung erlangte in den letzten Jahren Chinosol. Nach Bieling (25) kommt für die Konservierung therapeutischer Sera neben Phenol und Trikresol auch Chinosol als 0,1 prozentiger Zusatz in Anwendung. Die zunehmende Verwendung des Chinosols als „geeignetes Mittel für äußere und innere Desinfektion" ließ eine eingehende Prüfung des Präparates hinsichtlich seiner Brauchbarkeit als Konservierungsmittel für Blut und Seren angezeigt erscheinen. Es galt zu prüfen, ob seine tatsächlichen Leistungen mit den von der Herstellerfirma angekündigten in Einklang stünden.

Nach Angaben der Chinosolfabrik (25) ist Chinosol in ausländischen Seruminstituten vielfach im Gebrauch, und zwar ist ein Chinosolzusatz von 1 : 750 zum Serum ausreichend, um vorher nicht keimfrei filtrierte Sera zu sterilisieren und zu konservieren, wogegen das 0,1 prozentige Chinosol genügt um keimfreie Sera zu konservieren.

Die Veterinärpolizeiliche Anstalt und das Bayerische Serumwerk G. m. b. H. in München verwendeten während der Aktion zur Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche im Jahre 1928 das Chinosol (0,15 %) als Konservierungsmittel für das Rekonvaleszentenserum.

In eigenen Versuchen sollte das Verhalten des Bacterium abortus Bang gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln im Rinderblut und Rinderserum geprüft werden.

Im Hinblick auf das häufige Vorkommen der Banginfektion beim Rinde, die nach Wetzel (26) in den Jahren 1923 bis 1927 zwischen 50 und 65 % der Abortusfälle ausmachte (ca. 20 % bei den in Deutschland gehaltenen Rindern) und unter besonderer Beachtung der umfangreichen Anwendung von Rinderblut und Rinderserum als Impfstoff, besitzt diese Frage eine besondere praktische Bedeutung.

B. Eigene Versuche.

Nachdem abortusbakterienhaltiges Rinderblut nicht zur Verfügung steht, wurde Rinderblut bezw. Rinderserum mit Abortusbakterien versetzt und darin die Lebensfähigkeit dieser Erreger mit und ohne Zusatz von Konservierungsmitteln festgestellt (Versuch I A und I B).

Des weiteren sollte die Einwirkung von Handelsseren, die mit den gleichen Konservierungsmitteln versetzt waren, geprüft werden. Es konnte dabei nicht ermittelt werden, wie lange die zur Untersuchung stehenden Handelsseren bereits konserviert waren. Hier wurden also im Gegensatz zu oben genannten Versuchen die Erreger in die bereits vorher mit Konservierungsmitteln versetzten Seren gebracht (Versuch II).

Das zum Versuch I A verwendete Rinderblut und für Versuch I B bestimmte Rinderserum wurde vor seiner Verwendung in einem Vorversuch auf das Vorhandensein von Abortusbakterien bezw. anderer Bakterien geprüft.

Vorversuch zu Versuch I A.

Von dem am 25. 1. möglichst steril gewonnenen Rinderblut (Gesamtmenge ca. 1500 ccm) wurden am gleichen Tage jeweils 0,1 ccm auf Nährböden verschiedener Art gebracht und

diese 7 Tage lang im Brutschrank beobachtet. Als Nährmedien fanden hiebei Verwendung:

1. Nährmedien in fester Form:
   a) gewöhnlicher 2 prozentiger Pferdefleischagar in Petrischalen ausgegossen,
   b) Traubenzuckeragar in Hochschicht mit einem p. h. Gehalt von 7,4,
   c) Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar in Schrägschicht
      1. mit Paraffinverschluß allein,
      2. mit Leuchtgaszusatz und Paraffinverschluß,
   d) Endoagar
   e) Drigalskiagar
   f) Bromthymolmilchzuckeragar.
2. Nährmedien in flüssiger Form:
   a) Rindfleischbouillon
   b) Traubenzuckerbouillon.

Im Tierversuch wurde ein Meerschweinchen (Nr. 20) am 18. 1. mit 1 ccm Blut intraperitoneal geimpft.

Das Ergebnis des Kulturversuches war ein negatives: Das Rinderblut erwies sich demnach als keimfrei.

Das Meerschweinchen ging an Darmentzündung am 25. 2. ein. Aus seiner Milz konnten durch Züchtung auf Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar unter Einführung von Leuchtgas Abortusbakterien nicht isoliert werden.

Versuch I A (mit Bangbakterien versetztes Blut).

Versuchsanordnung.

Wie bereits im Vorversuch erwähnt, wurde einem Rinde am 25. 1. mittels einer Kanüle, die durch einen Schlauch mit Glasrohransatz in Verbindung mit einer Flasche stand, zirka 1500 ccm Blut entnommen. Das Blut wurde durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Nach Prüfung auf Keimfreiheit (siehe Vorversuch zu Versuch I A) wurden hievon unter Zurücklassung des Fibrins jeweils 20 ccm mit einer sterilen Pipette

in 20 sterile kleine Glasfläschchen gebracht, jedes dieser Fläschchen wurde dann mit einer Öse Kultur von Abortus-Bang-Bakterien (auf Traubenzucker-Glyzerin-Agar gewachsen) beschickt. Je 2 Fläschchen wurden mit einem Konservierungsmittel versetzt. 2 Fläschchen mit Blut dienten ohne Zusatz von Konservierungsmitteln als Kontrolle.

Als Konservierungsmittel fanden Anwendung:

1. 0,5 % Phenol d. i. 2,2 ccm einer 5 proz. Phenollösung zu 20 ccm Blut unter Umschütteln tropfenweise zugesetzt (um Eiweißkoagulation zu verhüten).
2. 10 % Phenolglyzerin (bestehend aus Phenol liquefact. 5,5: Glycerin. pur. 20,0: aqu. dest. ad 100) d. i. 2,2 ccm auf 20 ccm Blut.
3. 0,4 % Trikresol d. i. 2,2 ccm einer 4 prozentigen Lösung auf 20 ccm Blut.
4. Formalin: 1 Tropfen einer 20 prozent. Formaldehydlösung auf 20 ccm Blut.
5. Yatren: Zusatz von 2,5 % d. i. 0,5 g Yatren pur. auf 20 ccm Blut.
6. 0,1 % Diaphtherin d. i. 0,2 ccm einer 10 proz. Lösung auf 20 ccm Blut.
7. Chinosol als Zusatz von 0,1 %, d. i. 0,2 ccm einer 10 proz. Chinosollösung auf 20 ccm Blut.
   Chinosol als Zusatz von 0,133 % d. i. 0,27 ccm einer 10 proz. Chinosollösung auf 20 ccm Blut.
   Chinosol als Zusatz von 0,15 % d. i. 0,3 ccm einer 10 proz. Chinosollösung auf 20 ccm Blut.

Der eine Teil der Fläschchen wurde bei einer mittleren Zimmertemperatur von 16 Grad Celsius, der andere Teil bei einer mittleren Kühlraumtemperatur von 2 Grad Celsius aufbewahrt. Nach 3 Tagen, am 28. 1. 29, wurde zum erstenmal geprüft, ob die Abortusbakterien abgetötet worden waren oder nicht. Eine weitere Prüfung fand nach 8 Tagen und weiterhin in 10 tägigen Abständen statt.

Erwies sich ein Fläschchen bei zwei Nachprüfungen als frei von Abortusbakterien, so wurde der Versuch als beendet angesehen.

Die Prüfungen erfolgten:

1. kulturell durch Anlegen von je vier Kulturen auf Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar in Schrägschicht und von vier gleichen Kulturen, denen nach der Methode von Ehrlich (27) Leuchtgas zugeführt wurde. Sämtliche Röhrchen erhielten einen Paraffinverschluß und wurden 7 Tage im Brutschrank bei 37 Grad gehalten und beobachtet. Bei der zweiten Nachprüfung wurde die Zahl der Kulturröhrchen auf vier reduziert, die sämtlich nach Einführung von Leuchtgas einen Paraffinverschluß erhielten.

2. durch den Impfversuch, wobei jeweils ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 1 ccm der mit Bakterien versetzten Blutprobe geimpft wurde. Nach 6 Wochen wurden die Meerschweinchen getötet, seziert und aus ihrer Milz auf Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar Kulturen angelegt; gingen sie schon früher an einer interimistischen Krankheit ein, so wurde ebenfalls nach Feststellung des Sektionsbildes aus ihrer Milz gezüchtet.

Bei der Prüfung wurde folgendermaßen vorgegangen:

Aus der Milz wurde ein mikroskopisches Ausstrichpräparat angefertigt und nach Gram gefärbt. Mit der Platinöse wurde dann aus der Milz auf 3 Kulturröhrchen gezüchtet. Gingen hiebei Kolonien vom Aussehen der des Bacterium abortus Bang auf, so wurden diese mikroskopiert, gegebenenfalls weitergezüchtet und serologisch durch Agglutination allgemein in der Verdünnung 1 : 50 geprüft.

Ausschlaggebend für das Endergebnis bei der Kulturprüfung, wie beim Impfversuch war hiebei immer das Ergebnis der Agglutination.

Ergebnis des Versuches I A.

Im Versuch I A zeigte sich bei den in einer mittleren Zimmertemperatur von 16 Grad Celsius gehaltenen Blutproben, daß ein Zusatz von 2,5% Yatren pur. genügt, die Abortusbakterien nach 8 Tagen abzutöten. Der Nachweis gelang hier noch kulturell nach 3 Tagen, während der gleichzeitige Impfversuch ein negatives Ergebnis hatte. Das betreffende Versuchstier (Nr. 33) wurde planmäßig 6 Wochen nach Infektion getötet.

Bei der mit Phenolglyzerin versetzten Blutprobe gelang der Nachweis noch nach 8 Tagen aber nur kulturell, da das Impftier (Nr. 54) 6 Tage nach der Infektion an Enteritis eingegangen war.

Bei Phenol- bezw. Formalinzusatz konnten die Bakterien jeweils nach 18 Tagen noch nachgewiesen werden:

Nach Formalinzusatz kulturell und durch den Impfversuch, nach Phenolzusatz nur kulturell; der Impfversuch (Versuchstier Nr. 94) verlief negativ.

Nach 28tägiger Aufbewahrung wurden in der mit Trikresol versetzten Blutprobe noch lebensfähige Abortusbakterien kulturell und durch den Impfversuch nachgewiesen.

Bei Zusatz von 0,1% Diaphtherin und 0,1% Chinosol hielten sich Abortusbakterien 48 Tage lang am Leben. Der Impfversuch (Nr. 194) war auch hier negativ.

Länger waren die Bakterien lebensfähig bei Chinosolzusätzen im Verhältnis 1 : 750 und 1,5 : 1000. Im Kulturversuch konnten die Bakterien hier noch nach 58 Tagen nachgewiesen werden. Die beiden Meerschweinchen (Nr. 195 und Nr. 219) waren vorzeitig an Enteritis eingegangen.

In der nicht mit Konservierungsmitteln versetzten Blutprobe hielten sich die Bakterien 58 Tage lang am Leben (Kulturversuch). Der Impfversuch verlief nur bis zum 18. Tage positiv.

Bei den im Kühlraum bei 2 Grad Celsius aufbewahrten Blutproben waren in dem nicht mit einem Kon-

servierungsmittel versetzten Kontrollglas die Abortusbakterien noch nach 48 Tagen kulturell und durch den Tierversuch nachzuweisen.

Bei der mit Yatren versetzten Blutprobe wurden lebende Bakterien nur 3 Tage lang festgestellt. Das Impfmeerschweinchen (Nr. 22) ging 6 Tage nach Infektion an Pneumonie ein.

Nach 18 Tagen noch gelang der Nachweis bei dem mit Phenol, Phenolglyzerin und Trikresol versetzten Proben und zwar in jedem Falle durch Kultur und Impfversuch.

Nach 38 Tagen noch wurden Bakterien in der mit Formalin versetzten Probe ebenfalls kulturell und durch den Impfversuch nachgewiesen.

Bei Zusätzen von 0,1% Diaphtherin und 0,1% Chinosol hielten sich Abortusbakterien 48 Tage lang. Sie konnten im Kulturversuch nachgewiesen werden, während der Impfversuch (Nr. 199 bezw. 200) negativ ausfiel.

Nach 58 Tagen waren Abortusbakterien kulturell noch nachweisbar bei einem Chinosolzusatz von 1,5 : 1000. Der Impfversuch war hier ohne Ergebnis (Nr. 215).

Die größte Lebensfähigkeit der Bangbakterien — 98 Tage — konnte bei einem Chinosolzusatz von 1 : 750 beobachtet werden. Der Impfversuch fiel negativ aus. Bemerkt sei noch, daß die früher nach 68 bezw. nach 88 Tagen angestellten Nachprüfungen derselben Probe im Kultur- und Impfversuch ohne Ergebnis war.

In gleicher Weise wurde im Versuch I B die Lebensfähigkeit der Abortusbakterien im Serum mit und ohne Zusatz der oben angeführten Konservierungsmittel sowohl bei Zimmer- wie bei Kühlraumtemperatur geprüft. Als Konservierungsmittel wurde bei diesem Versuch noch Chloroform als 1,5 prozentiger Zusatz hinzugenommen.

Die im Versuch I B benutzten Serumproben wurden in einem Vorversuch wiederum auf Keimfreiheit mit besonderer Berücksichtigung von Abortusbakterien geprüft.

Uebersichtstabelle zu Versuch I A.

Verhalten des Bacterium abortus Bang in defibriniertem Rinderblut.

Aufbewahrung bei **Zimmertemperatur** von 16° C.

Bacterium abortus Bang in Rinderblut	Verhalten nach:																	
	3 Tg.		8 Tg.		18 Tg.		28 Tg.		38 Tg.		48 Tg.		58 Tg.		68 Tg.		78 Tg.	
	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.
ohne Konserv.-Zusatz	+	+	+	—	+	+	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—
mit Zusatz von:																		
0,5 % Phenol	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—								
10 % Phenolglyz.	+	+	+	—	—	—	—	—										
0,4 % Trikresol	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—						
1 Tropfen Formalin	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—						
2,5 % Natren	+	—	—	—	—	—	—	—										
0,1 % Diaphtherin	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
Chinosol 1 : 1000	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Chinosol 1 : 750	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Chinosol 1,5 : 1000	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—

Ueberſichtstabelle zu Verſuch I A.

Verhalten des Bacterium abortus Bang in defibriniertem Rinderblut.

Aufbewahrung bei **Kühlraumtemperatur** von + 2° C.

Bacterium abortus Bang in Rinderblut	Verhalten nach:																									
	3 Tg.		8 Tg.		18 Tg.		28 Tg.		38 Tg.		48 Tg.		58 Tg.		68 Tg.		78 Tg.		88 Tg.		98 Tg.		108 Tg.		118 Tg.	
	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.
ohne Konſerv.-Zuſatz	+	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−								
mit Zuſatz von:																										
0,5 % Phenol	+	−	+	+	+	+	−	−	−	−																
10 % Phenolglyz.	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−																
0,4 % Trikreſol	+	−	+	+	+	−	−	−	−	−																
1 Tropf. Formalin	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−												
2,5 % Natren	+	−	−	−	−	−																				
0,1 % Diaphtherin	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−								
Chinoſol 1 : 1000	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−								
Chinoſol 1 : 750	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Chinoſol 1,5 : 1000	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−								

Vorversuch zum Versuch I B.

Das Rinderserum wurde in einem hohen 2000 ccm fassenden Glaszylinder gewonnen, wobei nach der Gerinnung das Auspressen des Serums durch Beschweren mit einem Bleigewicht beschleunigt wurde. Das so gewonnene Serum — zirka 500 ccm — wurde in eine sterile Flasche abpipettiert und am 6. 2. auf Keimfreiheit geprüft.

0,15 ccm Serum wurden auf dieselben festen und flüssigen Nährmedien wie im Vorversuch zum Versuch I A gebracht. Außerdem wurde ein Meerschweinchen (Nr. 20) am 6. 2. mit 1 ccm Serum intraperitoneal geimpft.

Es konnten weder kulturell noch im Tierversuch Abortusbakterien ermittelt werden. Auch sonst erwies sich das Serum als keimfrei.

Versuch I B.

Versuchsanordnung.

Von dem keimfreien Serum wurden jeweils 20 ccm in 22 sterile Fläschchen abpipettiert und diese mit einer Öse Bangkultur versetzt. Alle Fläschchen, mit Ausnahme von zweien, erhielten einen Zusatz von Konservierungsmitteln. Verwendung fanden hiebei die schon im Versuch I A aufgezählten Mittel, nämlich:

1. Phenol als 0,5 proz. Zusatz
2. Phenolglyzerin als 10 proz. Zusatz
3. Trikresol als 0,4 proz. Zusatz
4. Formalin und zwar 2 Tropfen einer 2 proz. Formaldehydlösung
5. Yatren als 2,5 proz. Zusatz
6. Diaphtherin als 0,1 proz. Zusatz
7. Chinosol als Zusatz 1 : 1000
8. „ „ „ 1 : 750
9. „ „ „ 1,5 : 1000, ferner
10. Chloroform als 1,5 proz. Zusatz.

Sämtliche Konservierungsmittel jeweils auf 20 ccm Serum zugesetzt.

Der eine Teil des Serums wurde wieder bei einer mittleren Zimmertemperatur von 16 Grad Celsius, der andere bei einer mittleren Kühlraumtemperatur von + 2 Grad Celsius aufbewahrt.

Nach 3 Tagen, am 11. 2., wurde das Serum zum erstenmale daraufhin geprüft, ob die Abortusbakterien noch lebensfähig waren und zwar

1. im Kulturversuch, indem je eine Öse des Serums auf 4 Röhrchen mit Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar gebracht wurde. Die Kulturröhrchen wurden nach den günstigen Erfahrungen des Versuches I A (siehe Gegenüberstellung von Versuch I A und I B) sämtliche mit Leuchtgas versetzt und erhielten einen Paraffinverschluß.

2. im Tierversuch, wobei ein Meerschweinchen jeweils mit 1 ccm Serum intraperitoneal geimpft wurde. Die Versuchstiere wurden nach 6 Wochen, falls sie nicht schon früher an einer interimistischen Krankheit eingingen, getötet und seziert. Nach Anfertigung eines nach Gram gefärbten Ausstrichpräparates aus der Milz, wurden aus diesem Organ auf 3 Traubenzucker-Glyzerin-Leberagarröhrchen Kulturen angelegt, die nach Einführung von Leuchtgas einen Paraffinwatteverschluß erhielten. Nach 7tägiger Beobachtung im Brutschrank bei 37 Grad Celsius wurden analog Versuch I A, falls Wuchsformen vom Aussehen des Bacterium abortus Bang (Bangtypen) auftraten, diese Kolonien mikroskopisch und durch Agglutination geprüft.

Wie im Kulturversuch wurde auch im Tierversuch das positive oder negative Endergebnis durch die Agglutination sichergestellt.

Ergebnis des Versuchs I B.

Es zeigte sich, daß Abortusbakterien im nicht konservierten Rinderserum bei Zimmertemperatur von 16 Grad aufbewahrt nach 48 Tagen noch lebensfähig waren und zwar nachgewiesen durch den Kultur- wie durch den Impfversuch. Bei Kühlraum-

temperatur von 2 Grad Celsius konnten sie noch nach 68 Tagen isoliert werden; der Impfversuch (Nr. 253) verlief aber negativ.

Nach Zusatz von 2,5% Yatren pur. zum Rinderserum war sowohl bei den in Zimmertemperatur, wie bei den im Kühlraum gehaltenen Proben eine Abtötung schon bei der ersten Nachprüfung nach 3 Tagen eingetreten.

Das gleiche war bei den mit 0,1% Trikresol und 1,5% Chloroform versetzten und im Zimmer aufbewahrten Proben der Fall, während die beiden im Kühlraum gehaltenen Proben sich erst bei der zweiten Nachprüfung nach 8 Tagen als keimfrei erwiesen.

Zusätze von 0,5% Phenol und 10% Phenolglyzerin töteten die Abortusbakterien in den bei 16 Grad aufbewahrten Seren nach 8 Tagen ab, dies war bei den im Kühlraum gehaltenen Proben erst nach 18 Tagen der Fall.

In den mit Formalin und Diaphtherin versetzten Serumproben wurden ohne Unterschied des Aufbewahrungsortes die Bangbakterien ebenfalls nach 18 Tagen abgetötet.

Nach 38 Tagen konnten in den mit 0,1% Chinosol versetzten beiden Serumproben solche nicht mehr nachgewiesen werden.

Nach 58 Tagen gelang der Nachweis in der mit 0,15% Chinosol versetzten Probe nicht mehr.

Am längsten hielten sich wie im Versuch I A (Blut) die Abortusbakterien in den Proben, denen als Konservierungsmittel Chinosol im Verhältnis 1 : 750 zugesetzt war. Hier waren in der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Serumprobe Abortusbakterien noch nach 68 Tagen kulturell und durch den Impfversuch nachzuweisen, in der bei Kühlraumtemperatur gehaltenen Probe kulturell noch nach 88 Tagen. Der Impfversuch (Nr. 266) war negativ. Eine Abtötung der Abortusbakterien war also erst nach 78 bezw. nach 98 Tagen nachweisbar eingetreten.

Während bei der Serumprobe ohne Konservierungszusatz, die im Kühlraum bei 2 Grad Celsius aufbewahrt war, Bangbakterien erst 20 Tage später (nach 68 Tagen) als bei der im

Zimmer bei 16 Grad aufbewahrten, abgetötet wurden, trat im Gegensatz hiezu bei den mit Konservierungszusätzen versetzten Seren, die im Zimmer bei 16 Gr. gehalten waren, eine Abtötung der Abortusbakterien immer früher ein, als bei den gleichen Proben, die im Kühlraum bei 2 Grad Celsius aufbewahrt waren. Die Konservierungsmittel waren also bei höherer Temperatur von größerer Wirksamkeit.

Gegenüberstellung und Zusammenfassung der Versuche I A und I B.

Die vergleichende Gegenüberstellung der Versuche I A und I B Versuche mit Blut und Serum — bei Zimmertemperatur und Kühlraumtemperatur führte zu folgenden Beobachtungen:

Sämtliche Konservierungsmittel, mit Ausnahme des Chinosols 1 : 750 bei 16 Grad aufbewahrt und des Chinosols 1 : 1000 bei 2 Grad aufbewahrt, vermochten Abortusbakterien im Serum in wesentlich kürzerer Zeit abzutöten als im Blut. Die Unterschiede betragen hiebei einen Zeitraum von 3 bis 40 Tagen.

Der Unterschied der zur Abtötung der Bakterien notwendigen Zeit für Blut und Serum war bei Zusatz von Yatren am kürzesten — 3 Tage — am längsten bei Diaphtherin — 40 Tage —.

Trikresol, Yatren und Chloroform töteten die Abortusbakterien in bei Zimmertemperatur aufbewahrten Seren in weniger als 3 Tagen ab; im Blut benötigte Trikresol 28, Yatren 3 und Diaphtherin 48 Tage. Die Wirksamkeit des Trikresols, Yatren und Chloroforms war auch bei Kühlraumtemperatur eine bessere im Serum als im Blut. Die abtötende Wirkung von Trikresol und Chloroform im Serum äußerte sich nach 3 Tagen, die von Yatren in weniger als 3 Tagen; im Blut dagegen trat diese bei Yatren erst in 3 Tagen und bei Trikresol erst nach 18 Tagen auf.

Mit Ausnahme von Trikresol war die Wirksamkeit der Konservierungszusätze bei Zimmertemperatur entweder

Uebersichtstabelle zu Versuch I B.

Verhalten des Bacterium abortus Bang in Rinderserum.

Aufbewahrung bei Zimmertemperatur von 16° C.

Bacterium abortus Bang in Rinderserum	Verhalten nach:																			
	3 Tg.		8 Tg.		18 Tg.		28 Tg.		38 Tg.		48 Tg.		58 Tg.		68 Tg.		78 Tg.		88 Tg.	
	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.
ohne Konserv.-Zusatz	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—		
mit Zusatz von:																				
0,5 % Phenol	+	+	—	—	—	—														
10 % Phenolglyz.	+	+	—	—	—	—														
0,4 % Trikresol	—	—	—	—																
2 Tropfen Formalin	+	+	+	—	—	—	—	—												
2,5 % Natron	—	—	—	—																
0,1 % Diaphtherin	+	+	+	+	—	—	—	—												
Chinosol 1 : 1000	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—						
Chinosol 1 : 750	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—
Chinosol 1,5 : 1000	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—				
1,5 % Chloroform	—	—	—	—																

Uebersichtstabelle zu Versuch I B.

Verhalten des Bacterium abortus Bang in Rinderserum.

Aufbewahrung bei Kühlraumtemperatur von + 2° C.

Bacterium abortus Bang in Rinderserum	Verhalten nach:																							
	3 Tg.		8 Tg.		18 Tg.		28 Tg.		38 Tg.		48 Tg.		58 Tg.		68 Tg.		78 Tg.		88 Tg.		98 Tg.		108 Tg.	
	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.
ohne Konserv.-Zusatz	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—				
mit Zusatz von:																								
0,5 % Phenol	+	+	+	—	—	—	—	—																
10 % Phenolglyz.	+	—	+	+	—	—	—	—																
0,4 % Trikresol	+	+	—	—	—	—																		
2 Tropf. Formalin	+	—	+	—	—	—	—	—																
2,5 % Natren	—	—	—	—																				
0,1 % Diaphtherin	+	—	+	+	—	—	—	—																
Chinosol 1 : 1000	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—						
Chinosol 1 : 750	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—
Chinosol 1,5 : 1000	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—								
1,5 % Chloroform	+	+	—	—	—	—																		

gleich oder vielfach eine größere als bei Kühlraumtemperatur; insbesondere trat dies im Serum zu Tage.

Zusammenfassend kann also gesagt werden:

Für die Abtötung der Abortusbakterien im Blut bei Zimmertemperatur eignet sich in erster Linie Yatren und Phenolglyzerin; günstige Ergebnisse wiesen auch Phenol und Formalin auf. Dagegen blieben Trikresol, noch mehr Diaphtherin und die Chinosollösungen in ihrer Keimtötungsfähigkeit zurück.

Die Ergebnisse der Versuche mit Blut im Kühlraum lassen besonders Yatren, dann Trikresol, Phenolglyzerin und Phenol als geignet erscheinen, während Formalin und noch mehr Diaphtherin und die Chinosollösungen wesentlich geringere Abtötungsfähigkeit zeigten.

Für die Abtötung der Bangbakterien im Serum bei Zimmertemperatur erscheinen gleich hervorragend geeignet Chloroform, Yatren und Trikresol; dies deckt sich auch mit den Ergebnissen bei Kühlraumtemperatur.

Brauchbar als Abtötungsmittel im Serum bei Zimmertemperatur erwiesen sich auch Phenol und Phenolglyzerin und weiterhin Diaphtherin und Formalin. Die Wirksamkeit der Chinosollösungen war dagegen bei Zimmertemperatur wesentlich geringer.

In den Seren, die im Kühlraum aufbewahrt waren, zeigten sich am wirksamsten Chloroform, Yatren und Trikresol, weiterhin Phenol, Phenolglyzerin und Formalin sowie Diaphtherin (letztere untereinander mit gleicher Wirksamkeit). Chinosollösungen übten eine beträchtlich geringere Einwirkung aus.

Zu erwähnen wäre noch, daß mit zunehmendem Alter der nichtkonservierten Blut- bezw. Serumprobe, wie aus den entsprechenden Versuchsprotokollen ersichtlich ist, der Nachweis der Abortusbakterien erschwert war, weil die Zahl der Begleitbakterien gegenüber dem Gehalt an Bangbakterien außerordentlich stark überhand nahm. Die Isolierung der letzteren gelang

Zusammenfassung der Versuche IA und IB.

Versuch IA (Blut) — **Versuch IB (Serum)**

Aufbewahrung im **Zimmer** (16° C)

Art der Blutprobe	Letzt. Nachw. der Abortusbakt.	Art der Serumprobe	Letzt. Nachw. der Abortusbakt.
Blut ohne Konserv.-Zusatz	nach 58 Tg.	Serum ohne Konserv.-Zusatz	nach 48 Tg.
Blut mit Zusatz von		Serum mit Zusatz von	
0,5 % Phenol	„ 18 „	0,5 % Phenol	„ 3 „
10 % Phenolglyzerin	„ 8 „	10 % Phenolglyzerin	„ 3 „
0,4 % Trikresol	„ 28 „	0,4 % Trikresol	i. wen. als 3 „
0,1 % Diaphtherin	„ 48 „	0,1 % Diaphtherin	nach 8 „
1 Tropfen Formalin	„ 18 „	2 Tropfen Formalin	„ 8 „
2,5 % Yatren	„ 3 „	2,5 % Yatren	i. wen. als 3 „
Chinosol 1 : 1000	„ 48 „	Chinosol 1 : 1000	nach 28 „
Chinosol 1 : 750	„ 58 „	Chinosol 1 : 750	„ 68 „
Chinosol 1,5 : 1000	„ 58 „	Chinosol 1,5 : 1000	„ 48 „
		1,5 % Chloroform	i. wen. als 3 „

Aufbewahrung im **Kühlraum** (2° C)

Art der Blutprobe	Letzt. Nachw. der Abortusbakt.	Art der Serumprobe	Letzt. Nachw. der Abortusbakt.
Blut ohne Konserv.-Zusatz	nach 48 Tg.	Serum ohne Konserv.-Zusatz	nach 68 Tg.
Blut mit Zusatz von		Serum mit Zusatz von	
0,5 % Phenol	„ 18 „	0,5 % Phenol	„ 8 „
10 % Phenolglyzerin	„ 18 „	10 % Phenolglyzerin	„ 8 „
0,4 % Trikresol	„ 18 „	0,4 % Trikresol	„ 3 „
0,1 % Diaphtherin	„ 48 „	0,1 % Diaphtherin	„ 8 „
1 Tropfen Formalin	„ 38 „	2 Tropfen Formalin	„ 8 „
2,5 % Yatren	„ 3 „	2,5 % Yatren	i. wen. als 3 „
Chinosol 1 : 1000	„ 48 „	Chinosol 1 : 1000	nach 58 „
Chinosol 1 : 750	„ 98 „	Chinosol 1 : 750	„ 88 „
Chinosol 1,5 : 1000	„ 58 „	Chinosol 1,5 : 1000	„ 48 „
		1,5 % Chloroform	„ 3 „

dann nicht mehr, weder kulturell noch durch den Impfversuch. Die Dauer des Nachweises der Abortusbakterien war mit anderen Worten von dem jeweiligen Gehalt an Begleitbakterien, die bei den häufigen Probeentnahmen in die Fläschchen gelangten, abhängig. Ähnlich war die Untersuchung durch Begleitbakterien behindert bei den mit Chinosol 1 : 1000 und Formalin versetzten Blut- und Serumproben. In den mit Diaphtherin und Chinosol (1 : 750 und 1,5 : 1000) versetzten Proben wurde ein Wachstum von Begleitbakterien dagegen nicht beobachtet. Unter diesem Gesichtspunkte sind die Ergebnisse bei den mit Chinosol und Formalin versetzten Proben nur unter Einschränkung zu verwerten.

Bei der kulturellen Prüfung des Bakteriengehaltes der einzelnen Proben hat sich die Anlage von 4 Röhrchen als notwendig erwiesen. In vielen Fällen war nur ein Teil der Kulturröhrchen bewachsen.

Die Züchtung unter Zuführung von Leuchtgas hat sich der einfachen Züchtung unter Paraffinverschluß überlegen erwiesen. Durch den Leuchtgaszusatz wurde das Wachstum von Begleitbakterien zurückgedrängt und die spezifischen Kolonien zu rascherem Wachstum angeregt.

Versuch II.

Nachdem sich Abortusbakterien im Blut und Serum gegenüber verschiedenen Konservierungsmitteln als außerordentlich resistent erwiesen hatten, sollte auch die Wirksamkeit der in den Handelsseren (Rinderseren) enthaltenen Konservierungsmittel auf Abortusbakterien geprüft werden.

Es wurde dabei wohl bedacht, daß manche Konservierungs- und Desinfektionsmittel im Serum mit der Zeit in ihrer Wirksamkeit nachlassen; denn es ist nicht gesagt, daß diese Mittel nicht noch eine höhere Wirksamkeit gezeigt hätten, wenn die Versuche nur mit ganz frisch konservierten Seren angestellt

worden wären. So aber lag die Konservierung bei den im Handel erhältlichen Rinderseren zum Teil weit zurück.

Laut Mitteilung der herstellenden Firmen bestand die Konservierung im Zusatz von Phenol, Phenolglyzerin und Chinosol.

In den Versuch wurden einbezogen:

I. Maul- und Klauenseuche-Seren und zwar
  Aphthana-Serum, konserviert mit 0,15 % Chinosol,
  Rekonvaleszenten-Serum der Veterinärpolizeilichen Anstalt konserviert mit 0,15 % Chinosol,
  Riemser Serum konserviert mit 0,5 % Phenol in Form des Phenolglyzerins.

II. Seren gegen das seuchenhafte Verwerfen:
  Abortusserum Pharmagans
  „ Perleberg
  „ der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung
  sämtliche mit 0,5 % Phenol konserviert.

Vor Beginn des Versuches wurden die Seren auf Keimfreiheit, besonders auch auf Freisein von Abortusbakterien geprüft.

Vorversuch zum Versuch II.

Aus den Originalflaschen wurden je 3 ccm Serum in sterile Reagenzgläser gebracht. Von jedem Serum wurde ein mikroskopisches Präparat angefertigt und nach Gram gefärbt. Außerdem wurden von jedem Serum, wie im Vorversuch zum Versuch I A angegeben, Kulturen auf verschiedenen Nährmedien angelegt und der Impfversuch am 16. 1. durchgeführt.

Die Kulturen wurden 7 Tage lang bebrütet und beobachtet, die Meerschweinchen nach 6 Wochen, d. i. am 27. 2. getötet und zerlegt und aus ihrer Milz auf Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar gezüchtet.

Ergebnis:

Abortusbakterien konnten weder durch Kultur- noch durch Impfversuch ermittelt werden. Die Seren waren mit Ausnahme des vom Perleberger Impfstoffwerk stammenden Abortusserums keimfrei. Dieses war leicht mit Diplokokken und Staphylokokken verunreinigt.

Versuch II.

Versuchsanordnung.

Analog Versuch I A und I B wurden aus jeder Originalflasche am 18. 1. unter sterilen Kautelen je 20 ccm Serum in zwei sterile Glasfläschchen gebracht. Jedem dieser Fläschchen wurde eine Oese Abortus-Bang-Kultur hinzugefügt. Die Aufbewahrung des einen Teils des Serums erfolgte wiederum bei Zimmertemperatur von 16 Grad, des anderen Teils bei Kühlraumtemperatur von 2 Grad.

Nach 3 bezw. 10, 20, 30, 40 und 50 Tagen wurden die Seren auf die Anwesenheit lebender Abortusbakterien geprüft. Diese Prüfung erfolgte wieder kulturell und im Tierversuch und zwar wurden bei der ersten Nachprüfung nach 3 Tagen 8 Kulturröhrchen von jeder Serumprobe angelegt. Die Hälfte der Kulturröhrchen wurde nach Einführung von Leuchtgas mit einem Paraffinverschluß versehen, die andere Hälfte ebenso, doch ohne Leuchtgaszufuhr, geschlossen. Bei der zweiten Nachprüfung nach 10 Tagen und bei den folgenden wurde die Zahl der Kulturröhrchen auch hier vermindert und dabei nur das Leuchtgasverfahren angewandt. Beobachtungszeit der Kulturröhrchen war wiederum 7 Tage. Der Impfversuch wurde nach 6 Wochen abgeschlossen.

Ergebnis des Versuches II.

Versuch II deckt sich in seinem Ergebnis ziemlich mit Versuch I B (Serumversuch) bezüglich der Wirksamkeit der in den Seren enthaltenen Konservierungsmittel gegenüber Abortusbakterien.

So waren dieselben in den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Abortusseren von Pharmagans und von der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung (konserviert mit 0,5 % Phenol) nach 10 Tagen abgetötet. Beim Perleberger Abortusserum, sowie beim Riemser und Aphthana-Serum war dies nach 20 Tagen der Fall, während sich die Bangbakterien im Rekonvaleszenten-

Uebersichtstabelle zu Versuch II.

Verhalten des Bacterium abortus Bang in den im Handel befindlichen Rinderseren.

Bacterium abortus Bang in	Zimmertemperatur von 16° C. Verhalten nach:												Kühlraumtemperatur von + 2° C. Verhalten nach:											
	3 Tg.		10 Tg.		20 Tg.		30 Tg.		40 Tg.		50 Tg.		3 Tg.		10 Tg.		20 Tg.		30 Tg.		40 Tg.		50 Tg.	
	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.
Riemserserum (0,5 % Phenol)	+	+	—	+	—	—	—	—					+	—	+	+	—	—	—	—				
Aphthanaserum (0,15 % Chinosol)	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—
Rekonv.-Serum der Vet.-Pol. Anstalt (0,15 % Chinosol)	+	—	—	+	+	+	—	—	—	—			+	—	—	+	+	+	—	—	—	—		
Abortus-Serum Pharmagans (0,5 % Phenol)	+	+	—	—	—	—							+	+	+	+	—	—	—	—				
Abortus-Serum d. Ges. f. Seuchenbekämpfung (0,5 % Phenol)	+	+	—	—	—	—							+	+	—	—	—	—						
Ab.-Serum Perleberg (0,5 % Phenol)	+	+	—	+	—	—	—	—					+	+	—	—	—	—						

Serum der Veterinärpolizeilichen Anstalt nach 20 Tagen noch (im Kultur- und Impfversuch) als lebensfähig erwiesen.

Der Tierversuch erwies sich hier dem Kulturversuch gegenüber etwas überlegen, insoferne bei der zweiten Nachprüfung nach 10 Tagen im Riemser Serum, Rekonvaleszenten-Serum der Veterinärpolizeilichen Anstalt und Perleberger Serum der Impfversuch positiv, der Kulturversuch aber negativ ausfiel.

Schlußsätze.

I.

Zur Klärung der Frage, ob allenfalls mit Impfstoffen, die aus Rinderserum hergestellt werden, Abortusbakterien auf andere Tiere übertragen werden können, wurde die Wirksamkeit verschiedener Konservierungsmittel in Rinderblut und Rinderserum bei Zimmer- und Kühlraumtemperatur auf Abortus-Bang-Bakterien geprüft (Zusatz der Konservierungsmittel nach Einbringen der Bakterien in die Blut- und Serumproben).

1. In nichtkonserviertem Rinderblut blieben die Abortusbakterien 58 Tage, in ebensolchem Rinderserum 68 Tage lebensfähig. Noch später vorgenommene Prüfungen verliefen negativ, besitzen aber keine Beweiskraft, da das Untersuchungsmaterial inzwischen stark mit anderen Keimen verunreinigt war.

2. Yatren (2,5 %) und Chloroform (1,5 %) töteten die Abortusbakterien in spätestens 8 Tagen ab.

3. Nach spätestens 28 Tagen wurden die Abortusbakterien abgetötet durch Phenol (0,5 %) und Phenolglyzerin;

4. Nach spätestens 36 Tagen durch Trikresol (0,4 %);

5. Nach spätestens 48 Tagen durch Formalin (pro Liter Serum 50 Tropfen einer 20proz. Formaldehydlösung);

6. Nach 58 Tagen durch Diaphtherin (0,1 %);

7. Nach 68 Tagen durch Chinosol (0,1 und 0,15 %);

8. Nach 108 Tagen durch Chinosol (1 : 750).

9. In den mit Formalin und Chinosol (0,1 %) versetzten Proben traten im Lauf der Zeit Verunreinigungsbakterien in

so großer Zahl auf, daß der Nachweis der Abortusbakterien nicht mehr einwandfrei geführt werden konnte. Die Versuchsergebnisse sind deshalb nur unter Vorbehalt verwertbar.

10. Im Allgemeinen entfalteten die Konservierungsmittel im Blut bei Zimmertemperatur die gleiche Wirksamkeit wie bei Kühlraumtemperatur; im Serum erwiesen sie sich bei Zimmertemperatur wirksamer. Die abtötende Kraft der Konservierungsmittel war im Blut allgemein geringer als im Serum.

11. Von den aufgeführten Konservierungsmitteln wäre nur das Phenol, das Phenolglyzerin, Trikresol, Diaphtherin, Yatren und Chloroform in den angegebenen Mengenverhältnissen imstande, in einer Zeit bis zu 18 Tagen allenfalls im Serum enthaltene Abortusbakterien abzutöten.

12. Eine Verschleppungsmöglichkeit allenfalls im Serum enthaltener Abortusbakterien durch den Impfstoff auf andere Tiere könnte demnach nur dann im allgemeinen verneint werden, wenn eine Lagerungszeit des Serums von 18 Tagen beobachtet würde.

II.

Auch die Wirksamkeit der den Handelsseren zugesetzten Konservierungsmittel wurde geprüft (Einbringen der Bakterien in die b e r e i t s k o n s e r v i e r t e n Seren).

1. In den mit 0,5 % Phenol versetzten Seren wurden die Abortusbakterien innerhalb 20 Tagen abgetötet;

2. in den mit 0,15 % Chinosol versetzten Seren spätestens innerhalb 40 Tagen.

III.

Zum kulturellen Nachweis von Bangbakterien durch Züchtung auf Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar ist das Anlegen mehrerer Kulturröhrchen (mindestens 4) erforderlich.

Durch Einführen von Leuchtgas in die Kulturröhrchen läßt sich ein schnelleres und üppigeres Wachsen von Bangbakterien erzielen, als wenn die Röhrchen nur einen Paraffin-Watte-Verschluß erhalten.

In den meisten Fällen hat sich das Kulturverfahren zum Nachweis der Abortusbakterien besser bewährt, als das Impfverfahren. Nur in Einzelfällen, in denen das Kulturverfahren negativ verlief, erbrachte letzteres noch positive Ergebnisse.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir Bedürfnis, Herrn Direktor Dr. Drescher für die liebenswürdige Beratung bei der Ausführung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Dem Bezirkstierarzt Herrn Dr. Max Hopfengärtner bin ich für die Anleitung und Mithilfe bei Durchführung der Versuche zu großem Dank verpflichtet.

Literatur-Verzeichnis.

1. B. Bang, Das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. 33, S. 315.
2. Hodosy, Experimentelle Untersuchungen über die Affinität des Hodengewebes für die pathogene Wirkung der Bang'schen Abortusbakterien. Ref. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 1928, S. 647.
3. Marcis, Ueber die durch Bang'sche Abortusbazillen verursachte Erkrankung der männlichen Geschlechtsorgane. Deutsche Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 1928, S. 57.
4. Frieß, Ueber das Vorkommen des Bacillus abortus Bang im Blute. Inaug.-Diss. München 1929.
5. Ascoli, Ueber die Reinzüchtung des Bangschen Bazillus. Zeitschr. f. Hygiene. Jahrg. 1913, Bd. 75, S. 172.
6. Zwick u. Zeller, Ueber den infektiösen Abortus des Rindes. Arbeit. aus d. Reichsgesundheitsamt Bd. 43, S. 110.
7. Holth, Untersuchungen über die Biologie des Abortusbazillus u. die Immunitätsverhältnisse des infektiösen Abortus der Rinder. Zeitschr. für Infektionskrankh., paras. Krankh. u. Hygiene der Haustiere. Bd. 10, 1911.
8. Zeller, Weitere Untersuchungen über das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Samm.-Ref. Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 49 S. 65.
9. Brumpt, Sur le pouvoir pathogene du M. melitensis et du B. abortus pour le singe et l'homme. Ref. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. Bd. 92 S. 252.
10. Lustig u. Vernoni, Maltafieber. Handb. d. pathog. Mikroorganismen v. Kolle-Wassermann. 1928, Bd. IV S. 511.
11. Habs, Die Menschenpathogenität des Bacterium abortus Bang. Klin. Wochenschrift 1928, S. 453.
12. Orr u. Huddleson, An epidemiological study of undulant fever in Michigan. Ref. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. Bd. 90 Jahrg. 1928, S. 397.
13. Poppe, Der infektiöse Abortus des Rindes (Bang-Infektion). Handbuch d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 1929, Bd. VI, S. 693.
14. derselbe, Ueber die Banginfektion. M. med. Wochenschr. 1928, S. 703.

15. Kristensen, Untersuchungen über die Rolle des Bang'schen Abortusbazillus als menschenpathogenen Mikroben. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 108, S. 89.
16. van der Hoeden, Het besmettelijk verwerpen der runderen in verband met ziekten van den menschen. Ref. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Refer. Bd. 93 S. 161.
17. Ernst, Seuchenhaftes Verwerfen. Tierärztl. Rundschau 1929, S. 17.
18. Zwick u. Wedemann, Biologische Untersuchungen über den Abortusbazillus. Arbeit. aus d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 43, S. 130.
19. Prettner, Zur Konservierung der Immunsera für die Praxis, Zeitschr. f. Infektionskrankh., par. Kr. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. III, S. 210.
20 Enzenbach, Zur Serumgewinnung für die bayerische Notimpfung gegen den bösartigen Verlauf der Maul- u. Klauenseuche. In.-Diss. 1921. Ref. M. T. W. 1924, S. 671.
21. Hinz, Yatren als Konservierungsmittel für Seren. B. T. W. 1922, S. 419.
22. Herzberg, Vergleichende Untersuchungen über die Konservierung agglutinierender Sera mit Karbol-Glyzerin, Glyzerin und Yatren. Zbl. f. Bakt. Bd. 95, S. 245.
23. Ernst, Zur bayerischen Notimpfung gegen die bösartige Maul- und Klauenseuche. M. T. W. 1920, S. 6161.
24. Kirchner, Die Sterilisierung von Blutseren. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 8, S. 465.
25. Wissenschaftl. Grundlagen der Chinosole und ihre Bedeutung für die Praxis. Verl. Chinosolfabrik A.-G. Hamburg 1928.
26. Wetzel, Abortus des Rindes. Sammelberichte der Zentrale für die Bekämpfung der Aufzuchtkrankheiten 1926, 1927.
27. Ehrlich, Erfahrungen mit verschiedenen diagnostischen Methoden zur Feststellung des seuchenhaften Verkalbens. Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1928, S. 56.

Lebenslauf.

Geboren am 6. II. 1904 zu München, besuchte ich dort die Volksschule und das Gymnasium. Im Jahre 1923 erhielt ich das Reifezeugnis und studierte in München Veterinärmedizin. Die Approbation erlangte ich am 12. Juli 1927. Nach Ableistung des staatlichen Vorbereitungsdienstes am Schlachthof in München und bei dem städtischen Bezirkstierarzt in München, war ich von Mai bis Dezember 1928 an der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim als Praktikant und Aushilfstierarzt tätig. Seit Januar 1929 war ich an gleicher Anstalt mit der Anfertigung vorliegender Arbeit beschäftigt.

Schleißheim, Juli 1929.